



TITLE:

霊長類におけるシトクロムP-450の ポリモルフィズムに関する研究(III 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

大森, 栄

CITATION:

大森, 栄. 霊長類におけるシトクロムP-450のポリモルフィズムに関する研究(III 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1990, 20: 66-67

ISSUE DATE:

1990-08-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164118>

RIGHT:

ジョンカウンターで放射活性を測定し、合成量を求めた。また、肝臓および脳から脂質を抽出し、脂質クラスと脂肪酸組織の分析を行った。

肝ミクロソームの反応では、エイコサペンタエン酸から鎖長伸長されたドコサペンタエン酸と、さらにデルタ4デサチュラーゼにより不飽和化されたDHAの生成を認めたが、単位蛋白量あたりの生成量を比較したところ各年令での差異を認めなかった。また、脳ミクロソームの反応ではいずれの場合にもデルタ4デサチュラーゼ活性を認めず、DHAは生合成されなかった。総反応生物量も肝臓に比べて著しく少ないものであった。

肝脂質、脳脂質の高度不飽和脂肪酸含量は共に高く、リン脂質、特にホスファチジルエタノールアミン区分に多かった。脂質クラスについて見ると、肝脂質の場合、新生仔で成獣に比べてホスファチジルエタノールアミンの存在比が高く、脳脂質では逆に低かった。詳細についてさらに検討中である。

サルの各組織におけるアブシジン酸の局在とその生理的意義に関する研究

手塚 修文 (名古屋大)

動物組織に植物ホルモンの幾つかが存在していることが報告されているが、動物細胞内でのそれらの合成系や生理的役割の重要性については殆んど報告がない。この研究ではニホンザルの組織・細胞内における植物ホルモンの一種であるアブシジン酸 (ABA) の存在量とその生理的意義を解明するのが目的である。今回は、ABAについて解析を進める為に霊長類の血液を用いてABAの抽出法を確立したので、これについて報告する。

従来、ABAの定量には生物検定・高速液体クロマトグラフィー・免疫化学的測定法などが一般に用いられているため、これらの方法を用いて検討したが、これらのどの方法も最終的には抽出物の同定が必要であるのでガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いて同定・定量をしなければならない。そこで組織より分離したABAの検出のためにはジアゾメタンを用いてABAのメチルエステル化の必要がある。この目的のための特製装置の製作に工夫・改良を重ねて多大の労力と時間 (ほぼ1年) を要した。結局GC-MSによりABAの同定・定量法を確立するのに成功し

た。この系を用いてひきつづき、平成2年度も継続してニホンザルの血液・脳のABAの変動分布状態を詳細に調べて老化・性差などとの関連でABAの存在意義とその作用機構などについて目下検討中である。

霊長類におけるシトクロムP-450のポリモルフィズムに関する研究

大森 栄 (千葉大)

ニホンザル肝における、シトクロムP-450 (P-450) のポリモルフィズムの有無を明らかにすることを目的として、今年度は雌雄各6検体の計12検体を用い検討した結果を報告する。

1) P-450比含量について; 1個体で、他の個体に比較し約20%高値を示した以外、大きな個体差は認められず、雌雄間での差もなかった。

2) 代謝活性の個体差、雌雄差について; P-450の触媒活性について、ヒトで遺伝的に欠損しているP-450によって触媒される基質 (テストステロン、イミプラミン、デシプラミン) を選択した。テストステロンは主に6 β 位が水酸化されるが、ここで用いた12検体全てにおいて本活性が認められ、かつ性差も認められなかった。イミプラミン2位水酸化活性、脱メチル化活性においても、テストステロン6 β 水酸化活性の場合とほぼ同様の結果を得た。一方、デシプラミンの場合、2位水酸化活性には個体間ならびに雌雄間での差異は認められなかったものの、脱メチル化活性には性差が認められ、雌の方が雄に比較し約1.5倍高かった。水酸化活性と脱メチル化活性との比をとっても同様に明かな雌雄間での違いが認められた。ここにサルにおいてもP-450依存の反応が雌雄間で同一ではないことが示された。

3) ヒトで遺伝的に欠損しているP-450 (P-450N F, P-450M P) と免疫学的に類似したP-450分子種の比較; 個体間でP-450N Fが約2倍、P-450M Pが約2.8倍の違いが認められたが、欠損している個体を確認することはなかった。また、両蛋白共に、その含量に雌雄差を認めなかったことから、デシプラミンの脱メチル化反応には両酵素が関与している可能性は否定された。

今回用いた検体の中では、ニホンザル肝でのP-450の遺伝的多型を示す個体を確認することが出来なかったが、ヒトで報告されている場合の発

現頻度でも数%程度であり、本条件では、ほぼ1つの群れから採集した個体であること等を考慮し検体数を増やして検討することが必要である。また、サルで見られた代謝反応の性差について、さらに検討して行く予定である。

ニホンザル肝膜結合型酸性プロテアーゼとカテプシンDの比較

森山 昭彦 (名古屋市大)

昨年度の研究により、ニホンザル肝膜画分に存在する酸性プロテアーゼがカテプシンDに類似した酵素であることが明らかになった。研究では同酵素がカテプシンDであることを示し、カテプシンDの膜への親和性の生理的意義について考察した。

ニホンザル肝ホモジネート膜画分のトリトンX-100可溶化画分より、DEAE-セファセル、ブチルトヨパール等を併用したクロマトグラフィーにより酸性プロテアーゼを精製した。可溶性画分からも全く同じ方法を用いてカテプシンDを精製することができた。両酵素とも電気泳動度、分子量およびアミノ酸組成において区別できず、同一タンパク質と結論した。

次に、肝よりクロロホルム-メタノール抽出法により脂質を精製しカテプシンDに与える影響を調べた。変性ヘモグロビンを基質とした時、反応液中にリン脂質を共存させると分解活性は増大した。この活性化は低pH域ほど顕著であった。また酵素と脂質を混合後、遠心により脂質を分離し酵素の分布を調べたところ、上清中に92-99%の活性が回収された。酵素の一部が脂質に結合したと考えられたが、脂質画分においても90-104%の活性が検出され、脂質に結合した酵素が強く活性化されたためと考えられる。

他方、膜画分からは経時的に膜酵素であるアミノペプチダーゼMの遊離してくることが見いだされた。阻害実験等の結果、この遊離はカテプシンDによることが明らかになった。

これらの結果は、エンドサイトーシス後に形成される二次リソゾームにおいて、カテプシンDが膜に存在するタンパク質の分解に関与していることを示唆している。

B. 自由研究

野生霊長類のディスクレパンシーに関する研究

近藤信太郎 (岡山大・歯)

近年、ディスクレパンシー (歯と顎骨の不調和) による不正咬合が問題になっている。この現象は人類文化の発達と進化の矛盾を背景として生じた一種の文明病と考えられている (井上ら, 1986)。瀬戸口 (1987) はディスクレパンシーが飼育環境下に置かれたことのない野生サル類にみられることを報告している。昨年度は野生サル類の咬合では犬歯が重要との観点から性差を検討した。本年度は犬歯に関連する形態 (C-P₃コンプレックス) に着目してディスクレパンシーの解析を試みた。材料はオリーブコロボス (Cv), アカコロボス (Cb), キングコロボス (Cp) のメス各25頭の骨格標本である。歯列と咬合状態を観察し、歯列長径・幅径、歯冠近遠心径を計測した。

1) 咬合状態

コロボス類では切歯部の咬合は下顎前突または切端咬合である。しかし、犬歯より後方での咬合は近遠心的に正常である。

2) 歯の位置異常

前歯部の叢生や上顎小白歯の歯列弓狭窄、あるいは上・下顎小白歯の捻転が認められた。これらは出現様式からディスクレパンシー型の歯の位置異常と考えられる。

3) 歯列弓の形態

Cvは幅が広く、Cbは細長く、Cpは両者の中間的形態である。Cbは歯列に対して歯が大きく、歯の捻転が強い。Cvは上顎大白歯部での歯列の湾曲が強い。

4) C-P₃コンプレックスの種間差

歯間空隙: 上顎の霊長空隙は観察した全個体にみられるが、下顎の霊長空隙はみられる個体が少ない。Cpは歯間空隙の出現部位が多く、しかも大きい。

P₃の位置: CbはP₃が頬側に突出しており、CpはP₃の捻転の度合いが小さい。

5) ディスクレパンシーの種間差の総括

Cpでは歯を配列するのに十分な歯間空隙が歯列に用意されている。Cvでは臼歯部の歯列長を短くし、臼歯部の歯列湾曲を強くして、咬合の安